

CARACTERIZAÇÃO MULTIELEMENTAR DE ALIMENTOS E DIETAS REGIONAIS EMPREGANDO A TÉCNICA DE ANÁLISE POR ATIVACÃO COM NÊUTRONS

V. A. Maihara

Centro do Reator de Pesquisas – IPEN-CNEN/SP
Av. Professor Lineu Prestes, 2242
05508-000 São Paulo – SP
vmaihara@ipen.br

RESUMO

Durante as últimas décadas, a crescente demanda por segurança alimentar tem estimulado pesquisas sobre o risco associado ao consumo de alimentos contaminados por pesticidas, elementos tóxicos e /ou toxinas. Por outro lado, também há a preocupação de saber se os alimentos de uma determinada dieta estão suprindo a ingestão de elementos nutricionalmente importantes para a saúde. Desde 1982, o Laboratório de Análise por Ativação tem realizado pesquisas na área nutricional e tem empregado os métodos de Análise por Ativação com Nêutrons, Espectrometria Gama, Espectrometria de Absorção Atômica e Espectrometria de Emissão Atômica para avaliar os teores de elementos essenciais (Ca, Cl, Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Fe, K, I, Na, Se e Zn), tóxicos (As, Cd, Hg e Pb) e de radionuclídeos naturais das séries do ^{238}U e ^{232}Th presentes em diversos alimentos e em dietas

de grupos populacionais de crianças, estudantes, trabalhadores e de cidade como São Paulo e Poços de Caldas.

1. INTRODUÇÃO

A segurança alimentar é uma das principais preocupações em todo o mundo. Durante as últimas décadas, a crescente demanda por segurança alimentar tem estimulado pesquisas sobre o risco associado ao consumo de alimentos contaminados por pesticidas, elementos tóxicos e/ou toxinas. A necessidade de dietas saudáveis e de boa qualidade requer a capacidade de detectar a presença desses possíveis contaminantes, bem como conhecer a composição dos elementos nutricionalmente importantes nos alimentos mais consumidos por uma população.

Desse modo, o desenvolvimento e o aperfeiçoamento de técnicas analíticas têm aumentado, substancialmente, o conhecimento do papel dos nutrientes na saúde humana. Sabe-se que os nutrientes podem se tornar limitantes pelo consumo de dietas inadequadas e também pelo desequilíbrio ambiental, que acarreta um aumento da concentração dos elementos nocivos.

Em 1982, os estudos sobre os teores de elementos essenciais e tóxicos em alimentos foram iniciados com a dissertação de mestrado de V. A. Maihara, cujo título foi *Aplicação do método de Análise por Ativação com Nêutrons à determinação multielementar de amostras de alimentos*, defendida em 1985 [1]. A partir desse estudo foram iniciados inúmeros projetos de pesquisas com a finalidade de aplicar o método para a análise de diversos alimentos importantes, assim como estudar dietas de diversos grupos populacionais brasileiros.

Além dos estudos de dietas, o grupo do LAN analisou diversos alimentos, que podem ser considerados como bioindicadores do meio ambiente, como cogumelos e algas marinhas. Outros importantes trabalhos de destaque foram a determinação de elementos essenciais e tóxicos em amostras de colostro de leite materno e amostras de alimentos infantis industrializados. Outra contribuição relevante desenvolvida pelo grupo nessa área foi a produção de um material de referência de tecido de peixe, que teve o apoio institucional da Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA).

Esses estudos foram realizados em colaboração com grupos de pesquisas de outras instituições, como o Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, as Divisões de Bromatologia e de Equipamentos Especializado do Instituto Adolfo Lutz/SP, do Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL/Campinas),

Hospital das Clínicas da USP/SP e Agência Internacional de Energia Atômica, IAEA/Viena. Muitos desses estudos foram desenvolvidos como parte das Dissertações e Teses dos alunos de pós-graduação de Mestrado e Doutorado do Curso de Pós-graduação do Ipen-CNEN/SP.

A seguir serão descritos alguns desses estudos realizados nesses 35 anos no Laboratório de Ativação na área de nutrição aplicando, principalmente, a metodologia de Ativação com Nêutrons.

2. ESTUDOS SOBRE A COMPOSIÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E TÓXICOS EM ALIMENTOS

2.1. Aplicação do método de Análise por Ativação com Nêutrons à determinação multielementar de alimentos da dieta da população brasileira: leite em pó, pão francês, arroz e milho

Os objetivos desses estudos foram estabelecer a composição de elementos essenciais de diferentes alimentos básicos, que fazem parte da dieta da população brasileira, pelo método de Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA). Desse modo, contribuir com dados para a Tabela de composição nutricional de alimentos brasileiros. As concentrações dos elementos As, Br, Ca, Cl, Co, Cr, Fe, I, Mg, Mn, Na, Rb, Se e Zn foram determinadas nas amostras de alimentos por INAA. Além desse método foi aplicado o método de Ativação com separação radioquímica, que permitiu a determinação dos elementos Hg, Cd, Cu e La. Os resultados foram publicados em artigos [1-4].

2.2. Estudo da composição mineral e dos elementos traço essenciais em amostras de leite e derivados por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Induzido e Análise por Ativação com Nêutrons

A importância do trabalho para a saúde pública deve-se ao fato do leite ser um dos principais alimentos consumidos principalmente por crianças nos primeiros anos de vida. Dessa maneira torna-se fundamental o desenvolvimento de metodologias que permitam verificar a qualidade da composição mineral desse alimento e de seus derivados, sob o ponto de vista nutricional e toxicológica. Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento e o aprimoramento dos métodos de análise dos minerais e elementos traço essenciais em leites e derivados. Foram utilizados os métodos de espectrometria de emissão atômica com plasma induzido (ICP-AES) e a análise por ativação com nêutrons (INAA) para a determinação

dos seguintes elementos: Br, Ca, Cl, Cr, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na, P, Rb, Sc, Se e Zn. Diferentes procedimentos de mineralização das amostras foram estudados, a saber: a) utilização de forno de microondas focalizado; b) via úmida convencional; c) via seca convencional. A digestão parcial com uso de ácido clorídrico diluído permitiu a determinação de minerais e elementos traço (Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn) em amostras de leite e produtos lácteos, sendo os resultados comparáveis aos obtidos com uma digestão completa da matéria orgânica e com a técnica de AANI, que não requer tratamento de amostra, com boa exatidão e repetibilidade. [4].

2.3. Avaliação dos teores de elementos essenciais no leite materno de mães de recém-nascidos prematuros e a termo e em fórmulas infantis

Estudo da composição de nutrientes em leite materno tem fundamental importância, uma vez que o leite materno é a primeira e única fonte de todos os nutrientes necessários para as funções biológicas e para o crescimento acelerado que ocorre nas crianças recém-nascidas. Elementos essenciais têm importância para os recém-nascidos, por serem indispensáveis ao crescimento, desenvolvimento e manutenção de tecidos saudáveis. O objetivo deste estudo consistiu em contribuir para o conhecimento dos teores dos elementos essenciais Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se e Zn no leite materno (colostró) de mães de neonatos a termo e pré-termos. As amostras de colostró foram coletadas de forma manual do primeiro ao quinto dia após o parto no Hospital Estadual de Sapopemba/SP. Após a coleta, as amostras foram congeladas e liofilizadas. Foram também analisadas as principais fórmulas infantis comercializadas na Cidade de São Paulo. Para a determinação dos elementos essenciais foi utilizado o método de INAA. Para os elementos determinados foram observadas grandes diferenças em ambos os grupos. Análises multivariadas foram aplicadas e os resultados foram separados em dois clusters. Entretanto a separação não está relacionada com a idade gestacional. Em relação às fórmulas infantis, os resultados obtidos foram concordantes com os valores impressos nos rótulos e também estavam dentro dos intervalos recomendados pela Anvisa e pelo *Codex Alimentarius* e, portanto, adequados para as necessidades nutricionais dos bebês [5]. Esse estudo foi contemplado com a aprovação do projeto CNPq 474509/2008-7: “Aplicação do método de análise por ativação em leite materno e em fórmulas infantis- determinação dos teores de Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se e Zn”.

2.4. Determinação de elementos essenciais e tóxicos em alimentos comerciais infantis por INAA e Absorção Atômica

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que os bebês sejam amamentados de forma exclusiva, pelo menos, seis meses após o nascimento. Após este período, recomenda-se a introdução de alimentos complementares, a fim de atender as quantidades nutricionais, minerais e energéticas necessárias às crianças. Produtos alimentares destinados a lactentes formam uma parte importante da dieta de muitos bebês, por isso é muito importante que esses alimentos contenham quantidades suficientes de minerais. Alimentação complementar inadequada é uma das principais causas das altas taxas de desnutrição nos países em desenvolvimento. Neste estudo, níveis dos elementos essenciais: Ca, Cl, Co, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se e Zn e dos elementos tóxicos: As, Cd e Hg foram determinados em amostras de vinte e sete diferentes produtos alimentares por Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA) e Espectrometria de Absorção Atômica (AAS). As amostras de alimentos (27) para bebês foram adquiridas em supermercados e drogarias da cidade de São Paulo. Os elementos essenciais (Ca, Cl, Co, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Se e Zn) e tóxicos (As, Cd e Hg) foram determinados e a maioria das concentrações obtidas dos elementos essenciais estava abaixo das recomendações da OMS, enquanto as concentrações dos elementos tóxicos foram inferiores ao limite superior tolerável. As concentrações baixas dos elementos essenciais obtidas nessas amostras indicam que as crianças não devem ser apenas alimentadas com esses alimentos comerciais [6].

2.5. Determinação de Elementos Essenciais em Vinhos por Análise por Ativação com Nêutrons

Estudos apontam que o consumo diário e moderado de vinho contribui de forma significativa para as necessidades dos elementos essenciais para o corpo humano, bem como traz benefícios para a saúde como a prevenção de inúmeras doenças e maior expectativa de vida, relacionados em particular com a ingestão de antioxidantes como os compostos polifenólicos. Embora a indústria do vinho no Brasil esteja entre as 15 maiores do mundo, ainda são poucos os estudos analíticos dos elementos no vinho se comparado a outros grandes produtores. Este estudo teve como objetivo avaliar alguns procedimentos para preparação de amostras de vinho tinto para determinar elementos essenciais (Ca, Co, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, V e Zn) por INAA e comparar os resultados com o método de ICP OES. Três procedimentos de preparação da amostra foram estudados: liofilização, evaporação e calcinação. Os parâmetros estudados foram precisão,

exatidão e limite de detecção. Foram aplicados testes estatísticos de ANOVA e Tukey Kramer para verificar as diferenças estatísticas entre as médias obtidas pelos três procedimentos de preparação do vinho para INAA com as médias obtidas por ICP OES. Foi observado que cerca de 60% dos resultados obtidos por liofilização foram concordantes com aqueles obtidos por ICP OES [7].

2.6. Análise de Amostras de Cogumelos e de Algas Marinhas Comestíveis por INAA e GF AAS

Neste trabalho foram determinados por INAA os elementos As, Br, Co, Cr, Cs, Fe, K, Na, Rb, Se e Zn presentes em cogumelos comestíveis dos gêneros *Agaricus*, *Lentinus* e *Pleurotus* adquiridos em grandes centros de compra (supermercados), mercados municipais da cidade de São Paulo e diretamente dos produtores da região de Mogi das Cruzes, Suzano, Jujutiba e Mirandópolis. Observou-se uma variação na concentração dos elementos determinados nos diferentes gêneros, em que algumas amostras apresentaram o elemento arsênio, em baixas concentrações, possivelmente de uma contaminação no cultivo pelo uso de pesticidas nos substratos dos quais os cogumelos retiram seus nutrientes. Apesar da variação na concentração dos elementos, os cogumelos podem ser considerados como boa fonte nutricional, principalmente devido aos baixos teores de Na, sendo também uma boa fonte de K, Fe e Zn. O método de FG AAS foi aplicado para a determinação de Cd nessas amostras, que mostrou que os níveis desse elemento estavam abaixo do valor considerado prejudicial à saúde humana [8].

Foram analisadas as seguintes espécies de algas comestíveis: Nori (*Porphyra umbilicalis*); Hijiki (*Hijikia fusiforme*); Kombu (*Laminaria sp.*) e Wakame (*Undaria pinnatifida*) dos seguintes países: China, Estados Unidos, Japão e Coreia do Sul, adquiridas na cidade de São Paulo. Os métodos empregados foram INAA e ENAA (Análise por Ativação com Nêutrons Epitérmicos). A ENAA permitiu a determinação do elemento iodo. Os resultados mostraram que as algas marinhas comestíveis podem ser usadas na alimentação para suprir necessidades de alguns minerais, principalmente o I. Porém, o grupo de algas marrons apresentam teores elevados de As, Na e I, que indicam que o consumo desse grupo deve ser controlado para evitar possíveis problemas de saúde [9].

3. CARACTERIZAÇÃO DE DIETAS EMPREGANDO ESTUDOS EM PORÇÃO EM DUPLICATA E DE DIETA TOTAL – APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS

Segundo a Comissão do Codex Alimentarius da FAO/WHO existem três métodos confiáveis para estimar as ingestões dietéticas de nutrientes e contaminantes: análise de alimentos individuais, análise de dietas de pequenos grupos populacionais pelo método de porção em duplicata e análise de dieta de população pelo método de Dieta Total.

No método da porção em duplicata a dieta é composta a partir de duplicatas de todo alimento e bebida consumidos no período de estudo por um pequeno grupo populacional. As porções coletadas durante um período (de 24h a 3dias consecutivos) são misturadas de modo a formar uma dieta completa. Este estudo apresenta a vantagem das análises serem realizadas em alimentos realmente consumidos por um indivíduo, e os dados de consumo de alimentos não são necessários. Nesta técnica os dados obtidos se restringem a pequenos grupos de indivíduos. No LAN foram realizados estudos da porção em duplicata com grupos de crianças e idosos [10], de estudantes universitários [11] e de trabalhadores [12] aplicando a INAA para determinar os elementos essenciais. Com os valores de concentração e da quantidade dos alimentos consumidos foi possível estimar as ingestões dietéticas desses importantes elementos para os indivíduos dos grupos estudados e compará-las com valores recomendados estabelecidos por organismos de saúde pública. O projeto Fapesp:1999/12196- 8 (1999-2001): “Estudo de dietas consumidas por trabalhadores de indústrias em relação aos seus constituintes nutricionais e contaminantes metálicos” foi aprovado no contexto dessa pesquisa.

A partir de 2013, estudos foram iniciados sobre caracterização de dietas utilizando o método de Estudo de Dieta Total (EDT). Esses estudos utilizam dados de consumo de pesquisas nacionais para a elaboração de dietas de diferentes regiões do Brasil. Foram utilizados dados da POF (Pesquisa de Orçamento Familiar) do IBGE dos anos 2002-2003 e de 2008-2009 do consumo alimentar da região sudeste. No EDT as dietas são compostas por alimentos que são rotineiramente consumidos pela população, baseando-se nos dados de pesquisas, preparação dos alimentos como prontos para o consumo. Os alimentos são agrupados segundo similaridades em sua composição nutricional e preparados segundo hábitos normais do grupo em estudo. Por fim, os diversos grupos de alimentos são analisados e os resultados de ingestão dietética dos elementos são avaliados segundo critérios de

recomendação nutricional de órgãos de saúde pública. As pesquisas envolvendo o EDT foram contempladas com os apoios dos seguintes projetos de pesquisas apoiadas pelo CNPq e Fapesp: Projeto CNPq: 401994/05-8 (2005-2008): “Estudo de Dieta Total de São Paulo: Avaliação de Ingestão Dietética de Elementos Essenciais (Ca, Fe, Na, Se e Zn), Tóxicos (As, Cd, Hg) e Micotoxinas (Aflatoxinas B, G e M1, Fumonisina B1, Ocratoxina A e Desoxinivalenol)”;

Fapesp 2013/08869-6 (20013-2015) “Estudo de dieta total: Estimativa de ingestão dietética de elementos tóxicos (arsênio, cádmio, mercúrio e chumbo) e essenciais (cálcio, cobre, cromo, ferro, manganês, magnésio, potássio, sódio, selênio e zinco), segundo a Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 [13-15].

A importância destes projetos de pesquisa evidencia-se, na relevância da elaboração e análise direta de dietas utilizando dados nacionais de consumo alimentar brasileiro para estimativa de ingestão dietética dos elementos tóxicos e essenciais. Vale salientar que os dados obtidos são os primeiros obtidos para dietas brasileiras utilizando a metodologia de EDT.

4. DETERMINAÇÃO DE RADIONUCLÍDEOS ARTIFICIAIS E NATURAIS NOS COGUMELOS E DIETAS

Diferentes espécies de cogumelos têm a capacidade de reter altas concentrações de radionuclídeos e metais provenientes do solo. Foram determinados os conteúdos de ^{137}Cs , ^{40}K , ^{238}U e ^{232}Th , com a finalidade de estabelecer seus valores de referência, em cogumelos comestíveis comercializados em São Paulo-Brasil, e compará-los com teores de cogumelos provenientes de outras do mundo. As atividades específicas obtidas para o ^{137}Cs , presente nos cogumelos comestíveis pesquisados, estão abaixo dos limites máximos estabelecidos pela portaria regulatória 3.01/006 estabelecida pela CNEN, para alimentos em geral. Já para os radionuclídeos naturais, não existem valores de limites estabelecidos nessa portaria, porém, em comparação com valores reportados na literatura, pode-se concluir que os cogumelos não oferecem riscos à saúde humana em relação à presença desses radionuclídeos [15].

O estudo de ingestão de radionuclídeos naturais e do acúmulo de doses por meio do consumo de alimentos por uma população brasileira é praticamente inexistente no Brasil, especialmente utilizando a metodologia de EDT. Nesse contexto, foram avaliadas as ingestões dos radionuclídeos naturais em dietas de São Paulo e de Poços de Caldas, essa última considerada área de elevada radiação de fundo (HBRA). As determinações dos radionuclídeos foram realizadas aplicando-se

as técnicas de análise por espectrometria gama (^{40}K), separação radioquímica seguida de contagem alfa e beta total (^{210}Pb , ^{226}Ra e ^{228}Ra) e espectrometria alfa (^{210}Po , ^{228}Th , ^{230}Th , ^{232}Th , ^{234}U , ^{235}U e ^{238}U) [16].

5. CONCLUSÃO

As pesquisas na área de nutrição envolvendo a aplicação do método de Análise por Ativação com Nêutrons mostraram-se altamente promissoras, permitindo a obtenção de dados considerados importantes para a avaliação nutricional de inúmeros grupos populacionais em relação ao conteúdo de elementos essenciais e, principalmente, tóxicos presentes em dietas e alimentos brasileiros.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece aos órgãos de fomento Fapesp, CNPq, Capes, AIEA e ao IPEN- CNEN/SP pelo apoio e ajuda financeira para a realização dos projetos e pelas bolsas de iniciação científica, de mestrado e de produtividade.

REFERÊNCIAS

1. MAIHARA, V. A.; VASCONCELLOS, M. B. A. Multielemental analysis of Brazilian milk powder and bread samples by neutron activation. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, v. 122, n. 1, p.161-173, 1988.
2. MAIHARA, V. A.; VASCONCELLOS, M. B. A. Determination of brazilian rice grains and biological reference material by Neutron Activation. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, v. 132, p. 329-337, 1989.
3. ARMELIN, M. J. A. *et al.* Neutron Activation Analysis of the distribution of inorganic elements among five varieties of brazilian corn. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, v. 164, p. 265-274, 1992.
4. KIRA, C. S.; MAIHARA, V. A. Determination of major and minor elements in dairy products through inductively coupled plasma optical emission spectrometry after wet partial digestion and Neutron Activation Analysis. *Food Chemistry*, v. 100, p. 390-395, 2007.
5. SANTOS, P. S. *Avaliação dos teores de elementos essenciais no leite materno de mães de recém-nascidos prematuros e a termo e em fórmulas infantis por meio da Análise por Ativação com Nêutrons*. 2009. 113 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear – Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2009. DOI: 10.11606/D.85.2009.tde-27102009-095644

6. VALLINOTO, P. *Determinação de elementos essenciais e tóxicos em alimentos comerciais infantis por INAA e absorção atômica*. 2013. 109 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear – Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2013.
7. DANIELLE, A. P. *Determinação de elementos essenciais em vinhos por Análise por Ativação com Nêutrons*. 2016. 85 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear – Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2016.
8. MAIHARA, V. A. *et al.* Arsenic and cadmium content in edible mushrooms from São Paulo, Brazil determined by INAA and GF AAS. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, v. 278, p. 395-397, 2008.
9. ALBUQUERQUE, C. R. *et al.* Iodine determination in edible algae species using ENAA methodology. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE, 21-25 out. 2019, Santos–SP. *Proceedings* [...], 2019. Sigla do evento: INAC.
10. MAIHARA, V. A. *et al.* Estimate of toxic element intake in diets of pre-school children and elderly collected by duplicate portion sampling. *Food. Addit. Contam*, v. 15, n. 7, p. 782-788, 1998.
11. MAIHARA, V. A. *et al.* Determination of mineral constituents in duplicate portion diets of two university student groups by instrumental neutron activation. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, v. 249, p. 21-24, 2001.
12. MAIHARA, V. A. *et al.* Avaliação nutricional de dietas de trabalhadores em relação à proteínas, lipídeos, carboidratos, fibras alimentares e vitaminas. *Ciênc. Tecnol. Alim.*, v. 26, p. 672-677, 2006.
13. AVEGLIANO, R. P. *et al.* A brazilian total diet study: evaluation of essential elements. *Food Comp. Analys*, v. 24, n. 7, p. 1009-1016, 2011.
14. AMBRÓGI, J. B. *et al.* Essential elemento contents in food groups from the second Brazilian total diet study. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, v. 307, p. 2209-2216, 2016.
15. CASTRO, L. P.; MAIHARA, V. A.; SILVA, P. S. C.; FIGUEIRA, R. C. L. Artificial and natural radioactivity in edible mushrooms from Sao Paulo, Brazil. *J. Environ. Radioactiv*, v. 113, p. 150-154, 2012.
16. ROSA, M. M. L. *et al.* Determination of ^{234}U , ^{235}U , ^{238}U , ^{228}Th , ^{230}Th , ^{232}Th , ^{226}Ra , ^{228}Ra , and ^{210}Pb in foods from brazilian total diet. *J. Radioanal. Nucl. Chem*, v. 306, p. 695-700, 2015.